

# 機能する肺のブラックボックスを 光学イメージングで開くクリスタル胸郭

ロヒン・バネルジー、ハディ・ニア

透明な「クリスタル」胸郭により、臓器全体から一細胞スケールまで、動いている肺のリアルタイム高解像度光学イメージングが初めて可能になった。

肺は絶えず機能しており、病原体や汚染物質、さらに原発性・転移性がんなどの致命的な病変に常にさらされている。健康または病的な肺を、その機能を維持しながら細胞スケールで可視化することのニーズはあるものの、実現できていない。非侵襲的なコンピュータ断層撮影(CT)や磁気共鳴画像法(MRI)は空間解像度に欠けており、その一方で既存のリアルタイム生体内顕微鏡は肺の局所換気を損なう。

われわれはこの点に着目し、透明な「クリスタル」胸郭を開発した。クリスタル胸郭は、臓器全体から一細胞スケールに至るまで、機能している肺のリアルタイム高解像度光学イメージングを初めて可能にした。われわれのプラットフォームは、機能する肺の表面全体にわたり、がん、転移、肺炎、線維症、肺気腫などの主要な病変を精査するために使用されている。

## なぜ肺において 光学顕微鏡が重要なのか

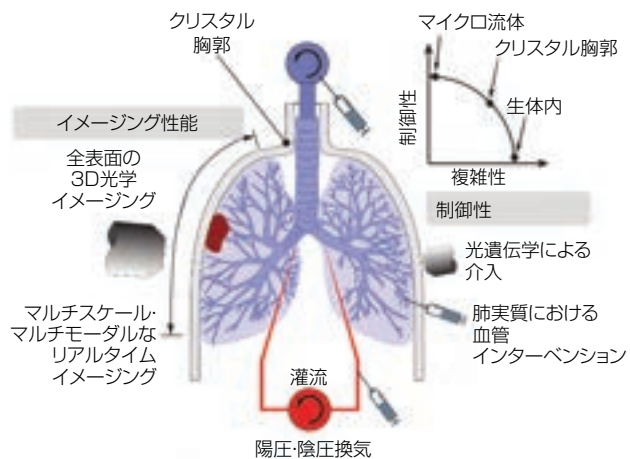
肺は、原発性・転移性がん、呼吸器感染症、閉塞性・拘束性肺疾患など、多くの致死性病変の発生部位である。これらの病変はすべて、肺の構造や機能に対して細胞レベルにまで化学的、生物学的、力学的に影響を及ぼす。肺は絶えず動いており、胸郭に囲まれているため、機能している肺をリアルタイムに調べることは困難である。

MRIやCTのような既存の臨床イメージングモダリティは、一細胞イベントをとらえるだけの空間解像度を有していない。組織学的分析はその瞬間のスナップショットに過ぎず、肺が呼吸しているときの細胞間の動的相互作用がわからない。

近年の生体内顕微鏡の進歩により、真空や接着剤を用いて肺表面をカバースリップに接着させることで、肺の狭

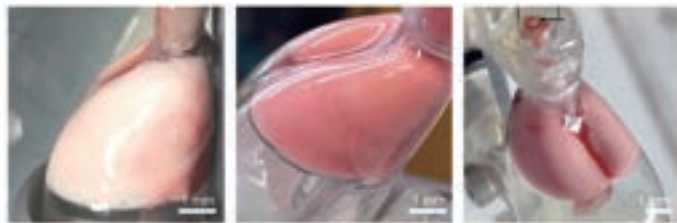
い領域内の循環動態を細胞スケールで調べることができるようになった。これにより肺の生物学や免疫学における大きな発見があったものの、肺の局所的な呼吸機能は損なわれていた。

われわれは、透明なクリスタル胸郭を開発し、機能しているマウス肺のほぼ全表面に対して、リアルタイムかつ高解像度の光学イメージングを可能にした(図1)。クリスタル胸郭を用いて、



変形可能なPDMS  
クリスタル胸郭  
(運動や深呼吸の研究用)

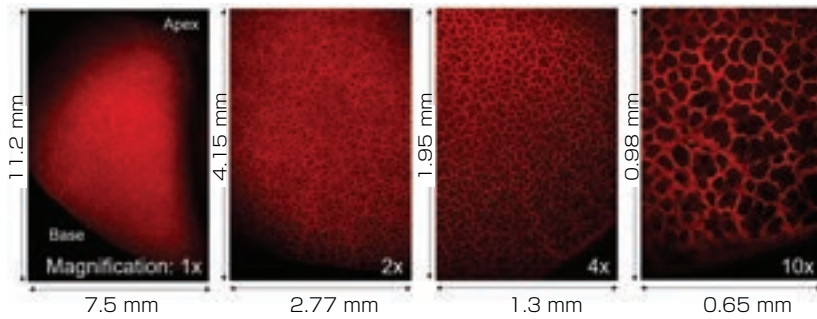
硬質ポリスチレンクリスタル胸郭  
(安静呼吸の研究用)



陽圧換気 (人工呼吸器)

陰圧換気 (自発呼吸)

図1 (上)クリスタル胸郭のコンセプト。光学顕微鏡を活用し、健康または疾患における肺機能を高解像度でリアルタイムにプローブする。(下)体外で機能するマウス肺を収納する、生体適合性のある透明な胸郭



換気量 0.15 mL  
 圧の範囲 -4 to -12 cmH<sub>2</sub>O

クリスタル胸腔内の肺

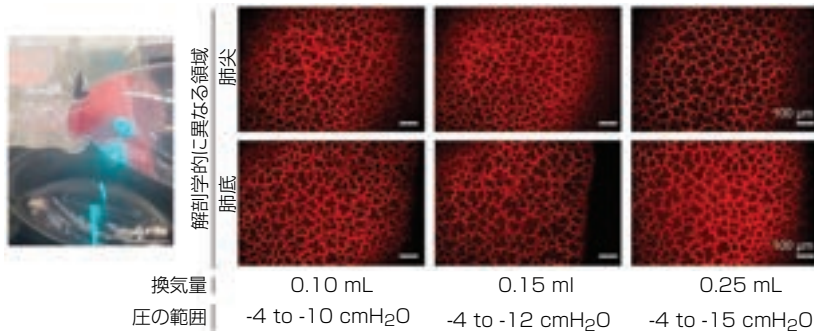


図2 (上)陰圧換気下で、肺葉全体から肺胞スケールまで、換気中の肺の真のマルチスケールかつリアルタイムイメージング。(下)クリスタル胸腔内の肺の表面全体にわたり、学的領域をイメージングできる(ここでは陰圧換気中)

われわれは疾患発症の初期段階と、どのように肺の構造と機能のリモデリングが起きるのかということ、一細胞に至るまで複数のスケールで研究を行った。

われわれのプラットフォームは、細胞の多様性と複雑な肺構造が保存された *in vivo* (生体内) システムの大きな利点と、光学イメージングとマイクロ生理学の高い制御性を持つ「臓器オンチップ」を組み合わせている。肺疾患の進行の根底にある因果関係を探る大きな機会をもたらし、健康と疾患の両方における肺のブラックボックスを効果的に開けることになる。

### クリスタル胸郭の設計とその応用

われわれのクリスタル胸郭は、透明で生体適合性のあるプラットフォームである。 *ex vivo* (生体外) で機能している肺の表面全体で、真にマルチスケ-

ルな光学イメージングが可能である生理学的環境をデザインした(図2)。本来の胸郭を模倣するため、形状や表面状態を年齢や系統ごとに特異的なものとするといった工夫も含めて設計した。人工呼吸器下である陽圧換気と、自発呼吸である陰圧換気の両方で、安静な横隔膜呼吸をサポートする硬質ポリスチレン製のクリスタル胸郭を開発した。また、運動や咳、ため息の際に生じる胸郭のマクロな変形を模倣する、柔軟なポリジメチルシロキサン(PDMS: poly-dimethyl-siloxane)製の胸郭も開発した。

どちらの素材も生体適合性を有し、生物学の研究ではありふれたもので、自家蛍光を発しないため、レーザ走査型共焦点顕微鏡、スピニングディスク型共焦点顕微鏡、多光子顕微鏡、高倍率対物レンズを用いる光コヒーレンス・トモグラフィ(OCT)に活用できる

(図3)。クリスタル胸郭プラットフォームはモジュール式で顕微鏡の種類に依存しないため、肺葉全体から肺胞1個に至るまで肺表面のイメージング可能領域を損なうことなく、トップダウンまたはボトムアップで構成されたあらゆる顕微鏡に使用できる。われわれのプラットフォームの性能を活用して、線維症、肺葉性肺炎、肺がん転移など、解剖学的に局限している肺疾患をプローブした。

このプラットフォームは、肺の3次元構造や気液界面、細胞の多様性、呼吸循環機能を維持する。そして、マウスモデルにおける原発性・転移性肺がん、肺炎、肺線維症、肺気腫、急性肺障害の疾患進行をプローブする。がんでは、換気中のがん細胞1個が圧迫されていることや、肺胞1個レベルで結節性腫瘍と浸潤性腫瘍のリモデリングの違いを観察した。結節があると一

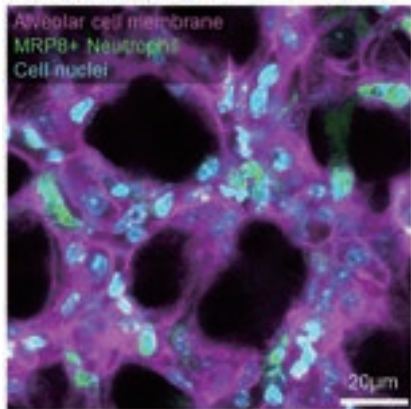


図3 クリスタル胸郭と、20倍および60倍の油浸対物レンズを含む高倍率レンズを用いてイメージングした細胞移動

細胞クラスターによる循環動態の乱れも認められた(図4)。

肺炎では、好中球の浸潤によって肺胞の換気と毛細血管の全体性が損なわれ、酸素と栄養の供給に影響を及ぼす可能性のあることが観察された。急性肺障害では、好中球の機械的応答性をリアルタイムに観察でき、移動速度と血管圧は相関していた。

最後に、われわれは毛細血管レベルで呼吸と循環の連関を証明し、それが急性障害では消失することを発見した。クリスタル胸郭における肺生理学の制御性は、肺病態のメカニズムを理解するための重要な機会をもたらす。

### 今後の方向性

クリスタル胸郭は、実質を呈するさまざまな肺疾患を研究するための汎用性の高いツールである。なぜなら、従来の顕微鏡では、生理的な肺のダイナミクスを完全に捉えるには時間がかかりすぎることが多いからである。われわれのプラットフォームをさらに強化するため、次世代の超高速体積イメージング技術と組み合わせることを目指している。これにより、機能している肺の呼吸において肺胞レベルでカルシ

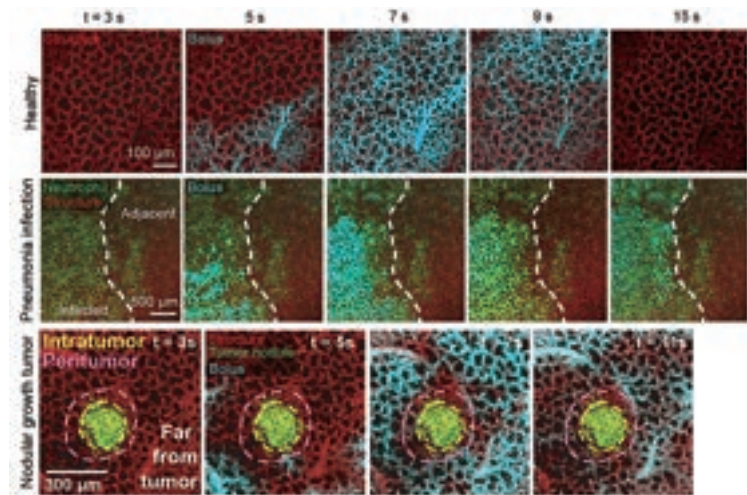


図4 腫瘍結節周辺および肺炎感染肺における毛細血管機能のリモデリング

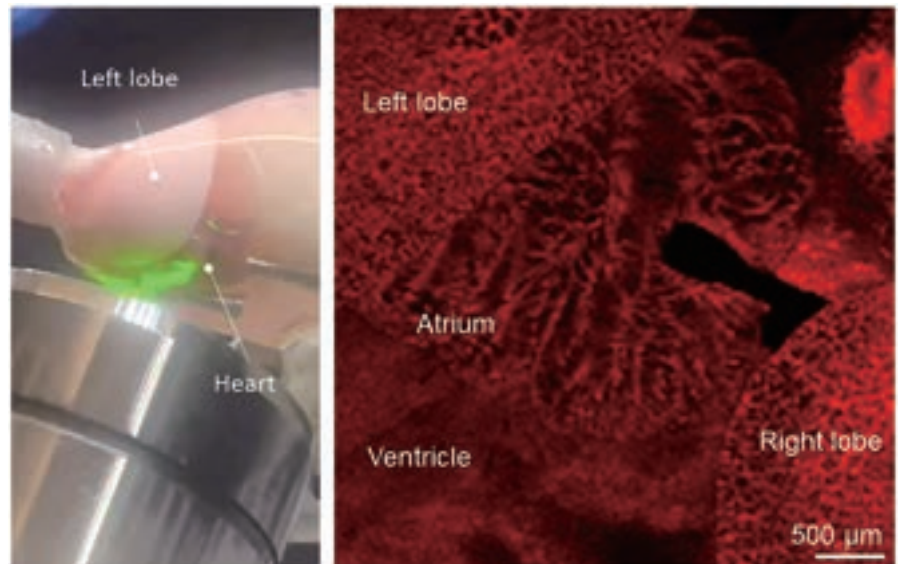


図5 クリスタル胸郭を用いた、血管圧が高いときの心房粗動のリアルタイムイメージング

ウムシグナル伝達、粘弾性、エネルギー散逸といった、呼吸や循環動態や細胞間コミュニケーションについて、より深い洞察が得られるだろう。

さらに、われわれのクリスタル胸郭は、心機能や心肺結合をリアルタイムでイメージングすることにも使用できる

(図5)。製造プロセスのスケラビリティと近年の生体外組織維持の進歩を利用し、クリスタル胸郭をスケールアップして、ブタのような大型動物や、移植に不適なヒト肺を使う研究も計画している。こうすることで、より臨床に近い文脈での研究が可能になるだろう。

### 謝辞

本記事に掲載されたデータ、図、内容は、以前に掲載された著者ら自身の研究からのものによる。R. Banerji et al., Nat. Methods, 20, 1790-1801 (2023); <https://doi.org/10.1038/s41592-023-02004-9>.

### 著者紹介

ロビン・バネルジーは米ボストン大マルチスケール・トランスレーショナルメカノバイオロジーセンターの博士課程の学生、ハディ・ニアは同センターのバイオメディカルエンジニアリングの准教授。